

## PCT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
 US Department of Commerce  
 United States Patent and Trademark  
 Office, PCT  
 2011 South Clark Place Room  
 CP2/5C24  
 Arlington, VA 22202  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
 in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing</b> (day/month/year) 22 March 2001 (22.03.01)	
<b>International application No.</b> PCT/EP00/06647	<b>Applicant's or agent's file reference</b> 209/PCT
<b>International filing date</b> (day/month/year) 12 July 2000 (12.07.00)	<b>Priority date</b> (day/month/year) 14 July 1999 (14.07.99)
<b>Applicant</b> MÜLLER, Hans, Rudolf et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

19 January 2001 (19.01.01)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
 34, chemin des Colombettes  
 1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Claudio Borton

---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 209/PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/06647	International filing date ( <i>day/month/year</i> ) 12 July 2000 (12.07.00)	Priority date ( <i>day/month/year</i> ) 14 July 1999 (14.07.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D 475/04, C07D 475/04, 239/00		
Applicant EPROVA AG		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 19 January 2001 (19.01.01)	Date of completion of this report 17 October 2001 (17.10.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**I. Basis of the report**

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☒ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-19, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the claims, Nos. 1-15, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1 - 15	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1 - 15	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 - 15	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations**

In view of the invariable application of the claimed method for separation of diastereomers from tetrahydrofolic acid sulphonic acid salts in an organic solvent, the subject matter of the application is considered novel (PCT Article 33(3)).

In view of the enrichment factor disclosed in the examples, which is surprising and significantly increased in relation to the closest prior art, EP-A-0 495 204, the development of the method according to the application is considered to involve an inventive step ((PCT Article 33(3))).

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



# VERTRAG ÜBER INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

REC'D 19 OCT 2001

WIPO

## INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

T16


Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 209/PCT	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/06647	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 12/07/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 14/07/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07D475/04		
Anmelder EPROVA AG		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 4 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
  - ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  19/01/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  17.10.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Herz, C  Tel. Nr. +49 89 2399 8275



---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-19                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-15                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,              Seiten:
- ☐ Ansprüche,                Nr.:
- ☐ Zeichnungen,            Blatt:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/06647

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

## V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

### 1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-15
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Aufgrund der unveränderlichen Durchführung des beanspruchten Verfahrens zur Diastereomerentrennung von Tetrahydrofolsäuresulfonsäuresalzen in einem organischen Lösungsmittel wird der Anmeldungsgegenstand als neu angesehen [Art. 33 (2) PCT].

Im Hinblick auf den durch Beispiele belegten, gegenüber dem nächstkommenden Stand der Technik, EP-A-0 409 204, überraschenden, signifikant erhöhten Abreicherungsfaktor, wird die Bereitstellung des anmeldungsgemäßen Verfahrens als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend erachtet [Art. 33 (3) PCT].

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESSENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>209/PCT</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 00/06647</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>12/07/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>14/07/1999</b>
Anmelder <b>EPROVA AG</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 2 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/06647

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGESTANDES**  
IPK 7 C07D475/04 /// (C07D475/04, 239:00, 241:00)

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	EP 0 495 204 A (EPROVA AG) 22. Juli 1992 (1992-07-22) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche 1-10 ---	1-15
Y	EP 0 537 492 A (EPROVA AG) 21. April 1993 (1993-04-21) Ansprüche 1-10 ---	1-15
Y	EP 0 682 026 A (EPROVA AG) 15. November 1995 (1995-11-15) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche 1-13 ---	1-15
Y	EP 0 348 641 A (EPROVA AG) 3. Januar 1990 (1990-01-03) Ansprüche 1-12 -----	1-15

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

6. Oktober 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

23/10/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Herz, C

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/06647

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 495204 A	22-07-1992	CH 681303 A	26-02-1993
		AT 123777 T	15-06-1995
		AU 654993 B	01-12-1994
		AU 1025492 A	23-07-1992
		CA 2059103 A,C	17-07-1992
		CN 1063285 A,B	05-08-1992
		DE 59105722 D	20-07-1995
		DK 495204 T	07-08-1995
		ES 2075315 T	01-10-1995
		FI 920180 A	17-07-1992
		HU 60272 A,B	28-08-1992
		IE 72164 B	26-03-1997
		IL 100478 A	12-03-1999
		JP 2010692 C	02-02-1996
		JP 4312586 A	04-11-1992
		JP 7039417 B	01-05-1995
		KR 207133 B	15-07-1999
		LV 10083 A,B	10-05-1994
		MX 9200063 A	01-01-1993
		NO 301422 B	27-10-1997
		NZ 241245 A	25-11-1993
		PT 100014 A,B	31-03-1993
		RU 2099340 C	20-12-1997
		US 5324836 A	28-06-1994
		ZA 9200291 A	30-09-1992
EP 537492 A	21-04-1993	CH 682664 A	29-10-1993
		AT 122675 T	15-06-1995
		CA 2078939 A,C	16-04-1993
		DE 59202227 D	22-06-1995
		DK 537492 T	17-07-1995
		ES 2073222 T	01-08-1995
		JP 2011432 C	02-02-1996
		JP 5294968 A	09-11-1993
		JP 7042288 B	10-05-1995
		US 5300505 A	05-04-1994
EP 682026 A	15-11-1995	CH 686369 A	15-03-1996
		AT 188699 T	15-01-2000
		AU 704363 B	22-04-1999
		AU 1793195 A	16-11-1995
		CA 2148671 A	10-11-1995
		CN 1122337 A	15-05-1996
		DE 59507591 D	17-02-2000
		ES 2144066 T	01-06-2000
		FI 952198 A	10-11-1995
		HU 71612 A	29-01-1996
		JP 8041062 A	13-02-1996
		NO 951796 A	10-11-1995
		PT 682026 T	31-05-2000
		ZA 9503673 A	12-01-1996
EP 348641 A	03-01-1990	DE 3821875 C	15-02-1990
		AT 124042 T	15-07-1995
		AU 624620 B	18-06-1992
		AU 3716189 A	04-01-1990
		CA 1339675 A	17-02-1998
		CN 1038813 A,B	17-01-1990

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/06647

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 348641 A		DD 284018 A	31-10-1990
		DE 58909305 D	27-07-1995
		DK 237789 A	30-12-1989
		ES 2075010 T	01-10-1995
		FI 893158 A,B,	30-12-1989
		HU 50822 A,B	28-03-1990
		IE 68942 B	24-07-1996
		JP 2048577 A	19-02-1990
		JP 2114722 C	06-12-1996
		JP 8026022 B	13-03-1996
		KR 9603613 B	20-03-1996
		NO 892697 A,B,	02-01-1990
		NZ 229254 A	26-10-1990
		PH 27148 A	02-04-1993
		PT 90999 A,B	07-11-1990
		US 5006655 A	09-04-1991
		ZA 8904896 A	28-03-1990

---

---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
18. Januar 2001 (18.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 01/04121 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C07D 475/04 // (74) Gemeinsamer Vertreter: EPROVA AG; A. Furger, Im Laternenacker 5, CH-8200 Schaffhausen (CH).  
(C07D 475/04, 239:00, 241:00)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/06647 (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (22) Internationales Anmeldedatum: 12. Juli 2000 (12.07.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 1300/99 14. Juli 1999 (14.07.1999) CH
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): EPROVA AG [CH/CH]; Im Laternenacker 5, CH-8200 Schaffhausen (CH).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MÜLLER, Hans, Rudolf [CH/CH]; Beckenwäldli 18, CH-8200 Schaffhausen (CH); MOSER, Rudolf [CH/CH]; Lahnhalde 11, CH-8200 Schaffhausen (CH); GROEHN, Viola [DE/CH]; Hardstrasse 10, CH-8212 Neuhausen am Rheinfall (CH).
- Veröffentlicht:  
— Mit internationalem Recherchenbericht.
- Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR MAKING PURE STEREOISOMERS OF TETRAHYDROFOLIC ACID ESTER SALTS AND TETRAHYDROFOLIC ACID BY FRACTIONATED CRYSTALLISATION OF TETRAHYDROFOLIC ACID SALTS

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG REINER STEREOISOMEREN VON TETRAHYDROFOL-SÄUREESTERSALZEN UND TETRAHYDROFOLSÄURE DURCH FRAKTIONIERTE KRISTALLISATION VON TETRAHYDROFOLSÄUREESTERSALZEN

(57) Abstract: The invention concerns a method for making and enriching ester salts of (6S,  $\alpha$ S)- or (6S,  $\alpha$ R)-tetrahydrofolic acid and (6S,  $\alpha$ S)- or (6S,  $\alpha$ R)-tetrahydrofolic acid. The invention is characterised in that it consists in: producing or dissolving equimolar or enriched mixtures of diastereomers of tetrahydrofolic acid ester additive salts with aromatic sulphonic acids in organic solvents; then crystallising said mixtures at least once; hydrolysing the crystallised product in (6S,  $\alpha$ S)- or (6S,  $\alpha$ R)-tetrahydrofolic acid as the case may be; crystallising the latter as free acid and isolating it in the form of salt.

(57) Zusammenfassung: Verfahren zur Herstellung und Anreicherung von (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäureestersalzen und -Tetrahydrofolsäure, dadurch gekennzeichnet, dass man in organischen Lösungsmitteln äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren herstellt oder löst, anschliessend wenigstens einmal kristallisiert, und dann das Kristallisat gegebenenfalls zu (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäure hydrolysiert, diese als freie Säure kristallisiert oder in Form eines Salzes isoliert.

WO 01/04121 A1

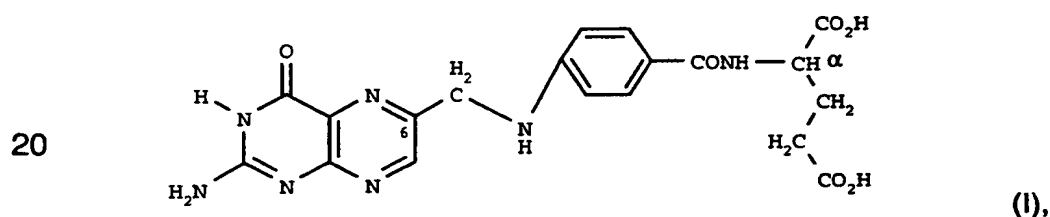
---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Verfahren zur Herstellung reiner Stereoisomeren von Tetrahydrofolsäureestern und Tetrahydrofolsäure durch fraktionierte Kristallisation von Tetrahydrofolsäureestersalzen**

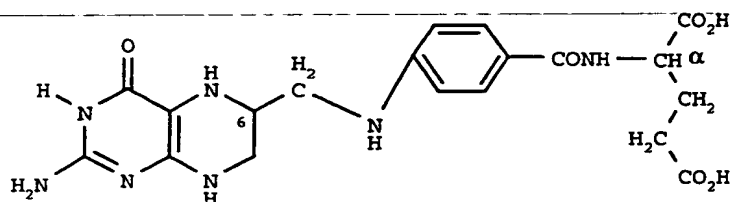
5 Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung und Anreicherung von (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäureestersalzen und -Tetrahydrofolsäure, indem man in einem organischen Lösungsmittel äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalzen von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren herstellt oder löst, anschließend wenigstens einmal kristallisiert, und diese gegebenenfalls zu (6S, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäure hydrolysiert und diese als freie Säure kristallisiert oder in Form ihrer Salze isoliert. Aus den Mutterlaugen können die Additionssalze der (6R, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6R, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäureester mit den entsprechenden Sulfonsäuren isoliert und durch Hydrolyse die entsprechenden Tetrahydrofolsäuren oder deren Salze erhalten werden.

15 Folsäure entspricht der Formel I,



wobei das asymmetrische  $\alpha$ -C-Atom im Glutaminsäurerest in der S-Konfiguration ( $\alpha$ S) oder in der R-Konfiguration ( $\alpha$ R) vorliegen kann. Die Enantiomeren der Folsäure werden nachfolgend als ( $\alpha$ S)-Folsäure und ( $\alpha$ R)-Folsäure bezeichnet. Das Gleiche gilt für die Folsäureester und ihre Derivate. Sie werden als ( $\alpha$ S)-Folsäureester und ( $\alpha$ R)-Folsäureester bezeichnet. Die natürlich vorkommende Folsäure entspricht der ( $\alpha$ S)-Folsäure.

30 Tetrahydrofolsäure entspricht der Formel II,



(II),

5

10

wobei das asymmetrische  $\alpha$ -C-Atom im Glutaminsäurerest in der S-Konfiguration ( $\alpha$ S) oder in der R-Konfiguration ( $\alpha$ R) vorliegen kann und das asymmetrische C-Atom 6 im Tetrahydropterinrest in der S-Konfiguration (6S) oder R-Konfiguration (6R) vorliegen kann. Die Diastereomeren der Tetrahydrofolsäure werden nachfolgend als (6S, $\alpha$ S)-, (6S, $\alpha$ R)-, (6R, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäure bezeichnet. Das Gleiche gilt für die Tetrahydrofolsäureester und ihre Derivate. Sie werden als (6S, $\alpha$ S)-, (6S, $\alpha$ R)-, (6R, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäureester bezeichnet. Die natürlich vorkommende Tetrahydrofolsäure entspricht der (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure.

15

Im Folgenden beinhaltet die Bezeichnung Folsäure, Folsäureester und Folsäureestersalze, falls nicht anderweitig bezeichnet, immer die beiden Enantiomeren ( $\alpha$ S) und ( $\alpha$ R) und die Bezeichnung Tetrahydrofolsäure, Tetrahydrofolsäureester und Tetrahydrofolsäureestersalze alle möglichen Diastereomeren.

20

Tetrahydrofolsäure hat in Form von 5-Formyl- oder 5-Methylderivaten und ihren physiologisch verträglichen Salzen eine breite therapeutische Anwendung gefunden. Es ist seit langem bekannt, dass die biologische Aktivität der natürlich vorkommenden Diastereomeren der reduzierten Folate, z. B. der (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure, bei weitem am Stärksten ist. Es ist daher zweckmässig, therapeutische Präparate bereitzustellen, in dem nur die aktivste Form enthalten oder diese zumindest hoch angereichert ist.

25

30

Tetrahydrofolsäure wird industriell im allgemeinen durch heterogene Hydrierung der beiden Imingruppen im Pteringerüst von ( $\alpha$ S)-Folsäure hergestellt, wobei man üblicherweise ein äquimolares Gemisch aus (6S, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure erhält. Das äquimolare Gemisch kann für pharmazeutische Zubereitungen verwendet werden. Man kann aber auch zuvor das gewünschte

(6S, $\alpha$ S)-Diastereomere der Tetrahydrofolsäure durch fraktionierte Kristallisation anreichern oder in reiner Form gewinnen, wofür verschiedene Verfahren bekannt sind, siehe zum Beispiel EP-0 495 204.

5 Das in der EP-0 495 204 beschriebene Verfahren verwendet die äquimolaren Mischungen von (6S, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ S)-Diastereomeren der Tetrahydrofolsäuresulfonsäuresalze, die in Wasser gelöst und dann kristallisiert werden. Dieses Verfahren führt zur Anreicherung des gewünschten (6S, $\alpha$ S)-Diastereomeren, wobei man bereits im ersten Kristallisationsschritt sehr hohe Anreicherungen erzielen (bis etwa 95%) und durch eine weitere fraktionierte Kristallisation reine (6S, $\alpha$ S)-  
10 Tetrahydrofolsäure erhalten kann. Dieses Verfahren kann unter anderem aus ökonomischer Sicht insofern nicht überzeugen, als die zur Salzbildung verwendeten Sulfonsäuren nur mit hohem Aufwand aus wässrigen Mutterlaugen abtrennbar sind, und daher die Entsorgung grosser Volumina sulfonsäurehaltiger Mutterlaugen vorgenommen werden muss, was wirtschaftlich ungünstig ist.

15 In der EP-0 682 026 wird die Herstellung von stabiler kristalliner (6S, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure durch Kristallisation aus einem wässrigen Medium bei bestimmten pH-Werten beschrieben. Die Anreicherungen bei den fraktionierten Kristallisationen sind jedoch so niedrig, dass mehrere Schritte für eine Anreicherung des gewünschten Diastereomeren auf über 99.5% nötig sind. Damit  
20 verbunden sind grosse Substanzverluste und die Gefahr der Bildung chemischer Abbauprodukte. Speziell aufwändig nach diesem Verfahren ist die Anreicherung von unnatürlichen Isomeren.

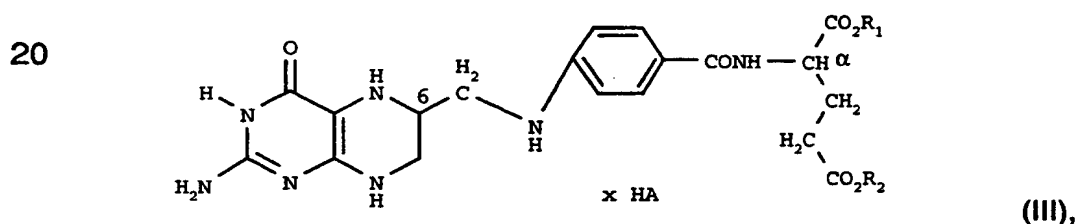
25 Es wurde nun überraschend gefunden, dass sich aromatische Sulfonsäuresalze (Additionssalze) der Tetrahydrofolsäureester hervorragend zur Herstellung von optisch reinen Diastereomeren der Tetrahydrofolsäure eignen, da nur die Additionssalze des (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Diastereomeren aus organischen Lösungsmitteln auskristallisieren. Ausgehend von einem 70:30 Isomerengemisch wird schon bei einer ersten Kristallisation eine ungewöhnlich hohe Anreicherung des  
30 (6S, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6S, $\alpha$ R)-Diastereomeren oder deren Mischungen im Kristallisat, und des (6R, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6R, $\alpha$ R)-Diastereomeren oder deren Mischungen in der Mutterlauge erzielt, die über 99% liegen kann. Mit einer

weiteren Kristallisation kann man dann meistens die optisch reinen Diastereomeren erhalten.

5 Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung und Anreicherung von (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäureestersalzen und -Tetrahydrofolsäure, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man in organischen Lösungsmitteln äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren herstellt oder löst, anschliessend wenigstens einmal kristallisiert, und dann das  
10 Kristallisat gegebenenfalls zu (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäure hydrolysiert, diese als freie Säure kristallisiert oder in Form eines Salzes isoliert.

Wenigstens einmal Kristallisieren bedeutet im Rahmen der Erfindung eine fraktionierte Kristallisation bis zur gewünschten Reinheit. Die Anzahl der Kristallisationsschritte richtet sich hierbei hauptsächlich nach dem Gehalt des oder der gewünschten Diastereomeren im Ausgangsprodukt.  
15

Die Additionssalze der Tetrahydrofolsäureester können der Formel III entsprechen und umfassen die (6S,αS)-, (6S,αR)-, (6R,αS)- und (6R,αR)-Diastereomeren,



25 worin R<sub>1</sub> oder R<sub>2</sub> H sind, und eines von R<sub>1</sub> oder R<sub>2</sub>, oder beide R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig voneinander einen monovalenten Kohlenwasserstoffrest oder einen über ein C-Atom gebundenen Heterokohlenwasserstoffrest mit Heteroatomen ausgewählt aus der Gruppe -O-, -S- und -N- darstellen,  
HA für eine aromatische Sulfonsäure steht,  
und x eine ganze Zahl von 1 bis 6 oder eine gebrochene Zahl zwischen 0 bis 6  
30 bedeutet.

5 R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können unabhängig voneinander gewählt werden, bevorzugt sind sie aber identisch. Bevorzugt stellen R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> einen Kohlenwasserstoffrest dar. Bei R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> als Kohlenwasserstoffrest kann es sich um aliphatische Reste mit 1 bis 20, bevorzugt 1 bis 12, besonders bevorzugt 1 bis 8, und insbesondere bevorzugt 1 bis 4 C-Atome, um cycloaliphatische oder cycloaliphatisch-aliphatische Reste mit 3 bis 8 Ringkohlenstoffatomen und 1 bis 6 C-Atomen im aliphatischen Rest, um aromatische Kohlenwasserstoffreste mit 6 bis 14 C-Atomen, besonders bevorzugt 6 bis 10 C-Atomen, oder um aromatisch-aliphatische Reste mit 7 bis 15 C-Atomen, besonders bevorzugt 7 bis 10 C-Atomen handeln.

10 Bei dem Heterokohlenwasserstoffrest kann es sich um Heteroalkyl mit 2 bis 16 C-Atomen, bevorzugt 2 bis 10 C-Atomen, und besonders bevorzugt 2 bis 6 C-Atomen, um heterocycloaliphatische Reste mit 3 bis 8, bevorzugt 5 oder 6 Ringgliedern, um heterocycloaliphatisch-aliphatische Reste mit 3 bis 8, bevorzugt 5 oder 6 Ringgliedern, und 1 bis 6, bevorzugt 1 bis 4 C-Atomen im aliphatischen Rest, um heteroaromatische Reste mit bevorzugt 4 bis 13 C-Atomen, und besonders bevorzugt 4 bis 9 C-Atomen und wenigstens einem Heteroatom, und um heteroaromatisch-aliphatische Reste mit bevorzugt 4 bis 13 C-Atomen, und besonders bevorzugt 4 bis 9 C-Atomen und wenigstens einem Heteroatom, und 1 bis 6, bevorzugt 1 bis 4 C-Atomen im aliphatischen Rest handeln, wobei die Heteroreste wenigstens ein Heteroatom ausgewählt aus der Gruppe -O-, -S- und -N- und bevorzugt -O- und -N- enthalten.

25 Die Kohlenwasserstoffreste können zum Beispiel ausgewählt sein aus der Gruppe lineares und verzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>-Alkyl, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>- und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>7</sub>-Cycloalkyl, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-Cycloalkyl-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>7</sub>-Cycloalkyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>-Aryl oder C<sub>7</sub>-C<sub>12</sub>-Aralkyl.

30 Die Heterokohlenwasserstoffreste können zum Beispiel ausgewählt sein aus der Gruppe C<sub>2</sub>-C<sub>16</sub>-Heteroalkyl, C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>- und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>-Heterocycloalkyl, C<sub>4</sub>-C<sub>7</sub>- und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>-Heterocycloalkyl-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, C<sub>4</sub>-C<sub>9</sub>- und bevorzugt C<sub>4</sub>-C<sub>5</sub>-Heteroaryl, und C<sub>5</sub>-C<sub>12</sub>- und bevorzugt C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>-Heteroaralkyl, wobei die Heteroreste 1 bis 3 und bevorzugt 1 oder 2 Heteroatome aus der Gruppe -O- und -N- enthalten.

5 R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können lineares oder verzweigtes Alkyl sein, das bevorzugt 1 bis 12, bevorzugter 1 bis 8, und besonders bevorzugt 1 bis 4 C-Atome enthält. Beispiele sind Methyl, Ethyl, und die Isomeren von Propyl, Butyl, Pentyl, Hexyl, Heptyl, Octyl, Decyl, Dodecyl, Tetradecyl, Hexadecyl, Octadecyl und Eicosyl. Bevorzugt ist das Alkyl linear und bevorzugt ist das Alkyl Methyl, Ethyl, n-Propyl und n-Butyl. Ganz besonders bevorzugt steht Alkyl für Methyl.

10 R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> enthalten als Cycloalkyl bevorzugt 4 bis 7 und besonders bevorzugt 5 oder 6 Ringkohlenstoffatome. Beispiele für Cycloalkyl sind Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, Cycloheptyl und Cyclooctyl. Besonders bevorzugt ist Cyclohexyl.

15 R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> enthalten als Cycloalkyl-alkyl bevorzugt 4 bis 7 und besonders bevorzugt 5 oder 6 Ringkohlenstoffatome, und bevorzugt 1 bis 4 und besonders bevorzugt 1 oder 2 C-Atome im aliphatischen Rest. Beispiele für Cycloalkyl-alkyl sind Cyclopropylmethyl oder -ethyl, Cyclobutylmethyl oder -propyl, Cyclopentylmethyl oder -ethyl, Cyclohexylmethyl oder -ethyl, Cycloheptylmethyl und Cyclooctylmethyl. Besonders bevorzugt ist Cyclohexylmethyl oder -ethyl.

20 R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Aryl für Naphthyl und bevorzugt für Phenyl stehen. R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> sind als Aralkyl bevorzugt Phenylalkyl mit bevorzugt 1 bis 4 C-Atomen im Alkyl. Beispiele sind Benzyl und  $\beta$ -Phenylethyl.

25 R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heteroalkyl zum Beispiel C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl-X<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>-alkyl sein, worin X<sub>1</sub> für O oder NC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl steht. Beispiele sind Methoxyethyl und Ethoxyethyl.

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heterocycloalkyl zum Beispiel Pyrrolidinyl, Piperidinyl, Morpholinyl, Tetrahydropyranyl oder Piperazinyl sein.

30 R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heterocycloalkyl-alkyl zum Beispiel Pyrrolidinylmethyl oder -ethyl, Piperidinylmethyl oder -ethyl, Morpholinylmethyl oder -ethyl, Tetrahydropyranyl-methyl oder -ethyl oder Piperazinylmethyl oder -ethyl sein.



R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heteroaryl zum Beispiel Thiophenyl, Furanyl, Pyranyl, Pyrrolyl, Imidazolyl, Pyridinyl, Pyrimidinyl, Pyrazinyl, Indolyl, Chinolinyl, Oxazolyl oder Isooxazolyl sein.

5

R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> können als Heteroaralkyl zum Beispiel Furanylmethyl oder -ethyl, Pyranylmethyl oder -ethyl, Pyrrolylmethyl oder -ethyl, Imidazolymethyl oder -ethyl, Pyridinylmethyl oder -ethyl, Pyrimidinylmethyl oder -ethyl, Pyrazinylmethyl oder -ethyl, Indolylmethyl oder -ethyl, Chinolinylmethyl oder -ethyl sein.

10

Eine bevorzugte Gruppe von Verbindungen der Formel III sind solche, worin R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> unabhängig voneinander C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, C<sub>5</sub>- oder C<sub>6</sub>-Cycloalkyl, Phenyl, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylphenyl, Benzyl oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkylbenzyl darstellen. Bevorzugt sind R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> gleiche Reste. Ganz besonders bevorzugt stellen R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl dar, zum Beispiel Methyl oder Ethyl.

15

In Formel III bedeutet x bevorzugt eine ganze oder gebrochene Zahl von 0.5 bis 4, besonders bevorzugt eine ganze oder gebrochene Zahl von 0.5 bis 3, und ganz besonders bevorzugt eine ganze oder gebrochene Zahl von 0.5 bis 2.

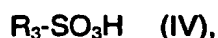
20

Die aromatischen Sulfonsäuren können eine bis drei, bevorzugt ein oder zwei, und besonders bevorzugt eine Sulfonsäuregruppe enthalten. Bevorzugt sind Sulfonsäuren von Kohlenwasserstoffaromaten. Die aromatischen Sulfonsäuren können unsubstituiert oder mit Halogen, linearem oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkyl, bevorzugt C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, linearem oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Alkoxy, bevorzugt C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkoxy, und linearem oder verzweigten C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>-Halogenalkyl, bevorzugt C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Halogenalkyl substituiert sein. Einige Beispiele für Substituenten sind Methyl, Ethyl, Propyl, Butyl, Methoxy, Ethoxy, Trifluor- oder Trichlormethyl, Fluor und Chlor. Bevorzugt enthält der aromatische Rest einen Substituenten. Unter den aromatischen Gruppen sind Phenyl und Naphthyl bevorzugt.

25

30

Die aromatischen Sulfonsäuren entsprechen besonders bevorzugt der Formel IV,



5 worin  $R_3$  unsubstituiertes oder mit F, Cl, Br,  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl,  $C_1$ - $C_4$ -Halogenalkyl oder  $C_1$ - $C_4$ -Alkoxy substituiertes Phenyl darstellt. Einige spezifische Beispiele für  $R_3$  sind Phenyl, Methylphenyl, Fluorphenyl, Chlorphenyl, Trichlormethylphenyl und Trifluormethylphenyl.

10 Besonders bevorzugte Verbindungen der Formel III sind solche, worin  $R_1$  und  $R_2$  je Methyl darstellen, x für 1 oder 2 oder für eine gebrochene Zahl zwischen 0.5 und 2 steht, und HA Phenyl-, Toluyl-, Fluor-, Chlor- oder Trifluormethylphenyl-sulfonsäure bedeutet. Substituierte Reste sind bevorzugt p-Toluyl-, p-Fluor-, p-Chlor- oder p-Trifluormethylphenyl.

15 Ganz besonders bevorzugte Verbindungen der Formel III sind solche, worin  $R_1$  und  $R_2$  je Methyl darstellen, x für 1 oder 2 oder für eine gebrochene Zahl zwischen 0.5 und 2 steht, und HA Phenyl- oder p-Toluylsulfonsäure bedeutet.

20 Die erfindungsgemäss verwendeten Additionssalze der Tetrahydrofolsäureester sind neu und können zum Beispiel durch Veresterung von Tetrahydrofolsäure in Gegenwart von Sulfonsäuren, oder durch Veresterung von Tetrahydrofolsäuresalzen in einem polaren organischen Lösungsmittel hergestellt werden.

25 Man kann auch von Folsäure ausgehen, und diese in an sich bekannter Weise in Gegenwart von heterogenen oder homogenen Hydrierkatalysatoren mit Wasserstoff hydrieren. Die Hydrierung kann auch diastereoselektiv geführt werden, wenn man in einem polaren Reaktionsmedium, zum Beispiel einem wässrigen oder alkoholischen Reaktionsmedium, in Gegenwart von im Reaktionsmedium löslichen chiralen Hydrierkatalysatoren mit Wasserstoff hydriert. Geeignete Hydrierkatalysatoren sind bekannt. Es handelt sich insbesondere um Metallkomplexe von Rh, Ir oder Ru mit ditertiären Diphosphinen, wie sie zum Beispiel von H. Brunner und W. Zettlmeier, Handbook of Enantioselective Catalysis, Vol. II: Ligand References, VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim (1993), beschrieben werden. Die erhaltene Tetrahydrofolsäure kann in an sich bekannter Weise anschliessend verestert werden. Wenn die Hydrierung in einem Alkohol als Lösungsmittel und in Gegenwart einer Sulfonsäure unter Reaktionsbedingungen

30

erfolgt, die zu einer Veresterung der Folsäure führen, gelangt man direkt zu den Additionssalzen aus den entsprechenden Tetrahydrofolsäureestern und Sulfonsäuren.

5 Man kann aber auch von Folsäureestern ausgehen, und diese in an sich bekannter Weise in Gegenwart von heterogenen oder homogenen Hydrierkatalysatoren mit Wasserstoff hydrieren. Die Hydrierung kann auch diastereoselektiv geführt werden, wenn man in einem polaren Reaktionsmedium, zum Beispiel einem alkoholischen Reaktionsmedium, in Gegenwart von im Reaktionsmedium löslichen chiralen Hydrierkatalysatoren mit Wasserstoff hydriert. Die erhaltenen  
10 Tetrahydrofolsäureester können anschliessend mit Sulfonsäuren in Additionssalze übergeführt werden. Die Hydrierung kann wie zuvor beschrieben mit in Alkoholen löslichen Metallkomplexen aus Ir, Rh oder Ru und ditertiären Diphosphinen als Hydrierkatalysatoren durchgeführt werden. Wenn die Hydrierung in einem Alkohol als Lösungsmittel und in Gegenwart einer Sulfonsäure durchgeführt wird, gelangt  
15 man direkt zu den Additionssalzen aus den entsprechenden Tetrahydrofolsäureestern und Sulfonsäuren. Verwendet man für die Hydrierung Additionssalze aus Folsäureestern mit Sulfonsäuren, so gelangt man ebenfalls direkt zu den Additionssalzen von Tetrahydrofolsäureestern und Sulfonsäuren.

20 Unter äquimolaren oder angereicherten Mischungen werden im Rahmen der Erfindung Mischungen verstanden, die entweder gleiche Mengen von Diastereomeren mit (6S)- und (6R)-Konfiguration oder einen Überschuss eines Diastereomeren mit (6S)- oder (6R)-Konfiguration enthalten. Man kann auch Mischungen von Diastereomeren (6S)- und (6R)-Konfiguration einsetzen, die entweder ( $\alpha$ S)- oder ( $\alpha$ R)-Konfiguration aufweisen, oder Mischungen von Diastereomerenpaaren  
25 mit (6S)- und (6R)-Konfiguration und unterschiedlicher Konfiguration am  $\alpha$ -C-Atom. Die Mischungen können das (6S, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6S, $\alpha$ R)-Diastereomere in einem Anteil von wenigstens 5, bevorzugt wenigstens 20, und besonders bevorzugt wenigstens 30 Prozent und bis zu etwa 75 Prozent oder mehr enthalten.

30 Geeignete organische Lösungsmittel sind polare organische Lösungsmittel, die bevorzugt wenigstens 1 g Additionssalz eines Tetrahydrofolsäureesters pro Liter

Lösungsmittel bei Siedetemperatur zu lösen vermögen. Beispiele für Lösungsmittel sind Halogenkohlenwasserstoff (Methylenchlorid, Chloroform, Tetrachlorethan, Chlorbenzol); Ether (Diethylether, Dibutylether, Tetrahydrofuran, Dioxan, Ethylenglykoldimethyl- oder -diethylether); Carbonsäureester und Lactone (Essigsäuremethylester, Essigsäureethylester, Propionsäuremethylester, Valerolacton); N,N-substituierte Carbonsäureamide und Lactame (Dimethylformamid, Dimethylacetamid, N-Methylpyrrolidon); Ketone (Aceton, Methylisobutylketon, Cyclohexanon); Sulfoxide und Sulfone (Dimethylsulfoxid, Dimethylsulfon, Tetramethylensulfon); und Alkohole (Methanol, Ethanol, n- oder i-Propanol, n-, i- oder t-Butanol, Pentanol, Hexanol, Cyclohexanol, Cyclohexandiol, Hydroxymethyl- oder Dihydroxymethylcyclohexan, Benzylalkohol, Ethylenglykol, Diethylenglykol, Propandiol, Butandiol, Ethylenglykolmonomethyl- oder -monoethylether, und Diethylenglykolmonomethyl- oder -monoethylether. Bevorzugt sind Ethanol und besonders Methanol. Es können auch Gemische von wenigstens zwei Lösungsmitteln verwendet werden.

Besonders bevorzugt werden Alkohole oder Mischungen aus Alkoholen mit wenigstens einem weiteren Lösungsmittel verwendet. Der Anteil an einem Alkohol beträgt bevorzugt wenigstens 30, besonders bevorzugt wenigstens 50 und insbesondere wenigstens 70 Volumenprozent. Ganz besonders bevorzugt wird nur Alkohol, zum Beispiel Methanol, oder Mischungen von Alkohol mit alkoholmischbaren Lösungsmitteln, zum Beispiel Methanol mit Ethern verwendet.

Im Einzelnen kann das Verfahren zum Beispiel so durchgeführt werden, dass man äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren aus Additions-salzen von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren mit einem Lösungsmittel mischt und anschliessend das Gemisch zur Lösung der Additions-salze von Tetrahydrofolsäureestern und aromatischen Sulfonsäuren erwärmt. Die Erwärmung kann bis zur Siedetemperatur des Lösungsmittels vorgenommen werden. Danach kühlt man die Lösung bis höchstens zum Festpunkt eines Lösungsmittels ab, wobei das (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Diastereomere oder beide Diastereomeren entweder spontan, oder durch Animpfen mit dem oder den gewünschten Diastereomeren, oder durch Einengen der Lösung auskristallisieren, und dann in üblicher Weise mittels Filtration abgetrennt werden können.

5 Es hat sich als besonderer Vorteil erwiesen, dass man zur Herstellung oder Anreicherung der Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren auch direkt die Reaktionslösungen der Hydrierung von Folsäureestern, oder der Hydrierung von Additionssalzen von Folsäureestern und aromatischen Sulfonsäuren verwenden kann.

10 Ausgehend von einem 70:30 Isomerengemisch wird bei der ersten Kristallisation bereits eine ausserordentlich hohe Anreicherung beobachtet, die zum Beispiel völlig überraschend bis zu über 99% betragen kann. Um die reinen (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Diastereomeren herzustellen, bedarf es in der Folge nur noch weniger, zum Beispiel bis zu drei, überraschend oft nur noch eines einzigen Kristallisationsschrittes.

15 Die beobachtete Anreicherung der (6S, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6S, $\alpha$ R)-Diastereomeren im Kristallisat ist so hoch und die Kristallisationsfähigkeit dieser Isomeren so ausgezeichnet, dass man das erfindungsgemässe Verfahren sogar zur Isolierung von (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Diastereomeren aus Mutterlaugen einsetzen kann, die überwiegend (6R, $\alpha$ S)- oder (6R, $\alpha$ R)-Diastereomere enthalten. Die erfindungsgemässe Methode eignet sich hervorragend für Trennverfahren im industriellen Massstab.

20 Die nach der Trennung erhaltenen Additionssalze von (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäureester mit Sulfonsäuren können anschliessend in an sich bekannter Weise hydrolysiert werden, zum Beispiel mit Basen wie NaOH oder KOH. Man erhält demnach die entsprechenden (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäuren. Diese Tetrahydrofolsäuren können in stabiler Form als freie Säuren durch Kristallisation isoliert werden, wie es zum Beispiel in der EP-A-0 682 026 beschrieben ist. Durch Zugabe von Säuren, zum Beispiel Sulfonsäuren, können die Salze der Tetrahydrofolsäuren ebenfalls kristallisiert und gewünschtenfalls weiter angereichert werden (EP-0 495 204).

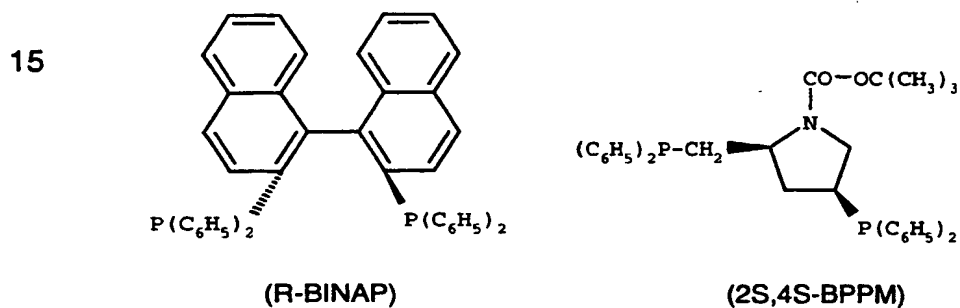
30 Die folgenden Beispiele können mit ähnlichem Erfolg durchgeführt werden durch Ersetzen der generisch oder spezifisch beschriebenen Reaktanden und/oder

Verfahrensbedingungen dieser Erfindung durch solche die in den folgenden Beispielen aufgeführt sind. Ebenso sind die folgenden spezifischen Ausführungsformen rein beispielhaft und in keiner Art und Weise limitierend auf den Rest der Offenbarung zu sehen.

5 Die gesamte Offenbarung aller Anmeldungen, Patente und Publikationen, die in diesem Text zitiert sind, sind durch Referenz miteingeschlossen.

Auf Basis der vorangehenden Beschreibung kann ein Fachmann auf dem Gebiet ohne Weiteres die entscheidenden Elemente der Erfindung entnehmen und ohne vom Grundgedanken und vom Umfang der Erfindung abzuweichen, Änderungen und Ergänzungen anbringen und dadurch die Erfindung an unterschiedliche  
10 Bedürfnisse und Bedingungen anpassen.

Die folgenden Abkürzungen werden verwendet:



20 und COD steht für Cyclooctadien.

Die optische Ausbeute beziehungsweise das Verhältnis von (6S,αS)- zum (6R,αS)-Diastereomeren bzw. des (6S,αR)- zum (6R,αR)-Diastereomeren wird folgendermassen mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie direkt im Kristallisat oder in der Mutterlauge bestimmt:

25 0.5 mg des Kristallisates oder 15 mg der Mutterlauge werden in 1 ml Lösungsmittel gelöst, welches aus 6.8 g β-Cyclodextrin und 270 ml 37% Formaldehyd in 1000 ml Wasser hergestellt wird. Die Trennung erfolgt mittels einer Säule Nucleosil C-8, 5 mm, 240 x 4 mm der Firma Macherey-Nagel und einem Fließmittel, das folgendermassen hergestellt wird: 6.8 g β-Cyclodextrin werden in  
30 einer Mischung aus 8.5 ml Triethylamin, 850 ml Wasser und 150 ml Acetonitril gelöst. Der pH-Wert der Lösung wird durch Zugabe von Essigsäure auf pH = 7.5

eingestellt, und es werden noch 270 ml 37% Formaldehyd zugegeben. Die Detektion der Diastereomeren erfolgt bei einer Wellenlänge von 300 nm.

5 Die Herstellung und Anreicherung sowie der Transfer von Lösungen und Suspensionen erfolgt unter Ausschluss von Sauerstoff unter Verwendung von Schutzgasen wie zum Beispiel Stickstoff oder Edelgasen.

### Beispiele

#### 10 A Herstellung von Lösungen von Additionssalzen aus Tetrahydrofolsäureestern und Sulfonsäuren

##### Beispiel A1

##### a Herstellung von ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat

15 800 g ( $\alpha$ S)-Folsäure-dihydrat (1.68 mmol) werden bei 40°C in eine Lösung aus 530 g Benzolsulfonsäure (3.35 mmol) und 20 Litern wasserfreiem Methanol unter einer Stickstoffatmosphäre eingetragen. Das Gemisch wird eine halbe Stunde unter Rückfluss erhitzt, abgekühlt und auf ein Volumen von 5 Litern eingeeengt. Das abgeschiedene Produkt wird abgenutscht, mit 1 Liter Methanol gewaschen und im Trockenschrank bei 40°C und 20 mbar getrocknet. Man erhält 966 g ( $\alpha$ S)-  
20 Folsäuredimethylester-benzolsulfonat (1.45 mmol, 86% der theoretischen Ausbeute) Das Produkt enthält 26.2% Benzolsulfonsäure, 1.67% Wasser und 2.26% Methanol.

Die Substanz zersetzt sich oberhalb von 150°C.

25  $^1\text{H-NMR}$  in DMSO- $d_6$ : 8.78 (1 H, s), 8.46 (2H, bs), 8.32 (1H, d), 7.64-7.68 (m), 7.35-7.40 (m), 6.66 (2H, d), 0.8 (2H, s), 4.39 (1H, m), 3.62 (3H, s), 3.57 (3H, s), 2.42 (2H, m), 1.98-2.11 (2H, m).

##### 30 b Herstellung einer Lösung eines (6S, $\alpha$ S)/(6R, $\alpha$ S)-Diastereomerengemisches von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat durch Hydrierung von ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat

6.72 mg  $[\text{Ir}(\text{COD})\text{Cl}]_2$  (10  $\mu\text{mol}$ ) und 15.57 mg (25  $\mu\text{mol}$ ) R-BINAP werden eingewogen, entgast und in Dichlormethan gelöst. Dichlormethan wird im Hochvakuum

abkondensiert und der Rückstand in 5 ml Methanol aufgenommen. 1.25 g ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat gemäss Beispiel A1a (2 mmol) werden in 25 ml Methanol suspendiert und zum Katalysator gegeben. Die Suspension wird im Stickstoffgegenstrom in einen 100 ml Autoklaven gegeben und so lange hydriert, bis keine Wasserstoffaufnahme mehr erfolgt. COD steht für Cyclo-octadien. Man erhält Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat. Das Verhältnis der Diastereomeren (6S, $\alpha$ S):(6R, $\alpha$ S) beträgt 74:26.

**c Herstellung einer Lösung eines (6S, $\alpha$ S)/(6R, $\alpha$ S)-Diastereomeregemisches von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Überschuss des (6R, $\alpha$ S)-Diastereomers durch Hydrierung von ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat**

6.72 mg [Ir(COD)Cl]<sub>2</sub> (10  $\mu$ mol) und 13.84 mg (25  $\mu$ mol) (2S,4S)-BPPM werden eingewogen, entgast und in Dichlormethan gelöst. Dichlormethan wird im Hochvakuum abkondensiert und der Rückstand in 5 ml Methanol aufgenommen. 1.25 g ( $\alpha$ S)-Folsäuredimethylester-benzolsulfonat gemäss Beispiel A1a (2 mmol) werden in 25 ml Methanol suspendiert und zum Katalysator gegeben. Die Suspension wird im Stickstoffgegenstrom in einen 100 ml Autoklaven gegeben und während 17 Stunden hydriert. Man erhält Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat. Das Verhältnis der Diastereomeren (6S, $\alpha$ S):(6R, $\alpha$ S) beträgt 34:66.

20

**Beispiel A2**

**Herstellung einer Lösung eines äquimolaren (6S, $\alpha$ S)/(6R, $\alpha$ S)-Diastereomeregemisches von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat durch Veresterung von Tetrahydrofolsäure**

25 20 g einer äquimolaren Mischung von (6S, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure (44.9 mmol) werden in 900 ml Methanol mit 10.65 g Benzolsulfonsäure (67.35 mmol) versetzt und 7 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Es entsteht eine Lösung von (6S, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat.

30



**Beispiel A3**

**Herstellung einer Lösung in einem (6S,αS)/(6R,αS)-Diastereomerenmischungsverhältnis von 70:30 von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat durch Veresterung von Tetrahydrofolsäure mit einem (6S,αS)/(6R,αS)-Diastereomerenverhältnis von 70:30**

5.31 g Tetrahydrofolsäure (11.92 mmol) mit einem Diastereomerenverhältnis von (6S,αS):(6R,αS) = 70:30 (hergestellt nach EP 0 495 204 B1) werden in 230 ml Methanol mit 2.83 g Benzolsulfonsäure (17.88 mmol) 7 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Man erhält eine Lösung von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Diastereomerenverhältnis von (6S,αS):(6R,αS) = 70:30.

**Beispiel A4**

**Herstellung einer äquimolaren Lösung der Diastereomeren von (6S,αS)- und (6R,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonat**

10 g einer äquimolaren Mischung von (6S,αS)- und (6R,αS)-Tetrahydrofolsäure (22.45 mmol) werden in 450 ml Methanol mit 6.41 g Toluolsulfonsäure-mono-hydrat (33.67 mmol) versetzt und 7 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Man erhält eine Lösung von Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonat mit einem Diastereomerenverhältnis von (6S,αS):(6R,αS) = 1:1.

**Beispiel A5**

**Herstellung einer äquimolaren Lösung von Diastereomeren des (6S,αS)- und (6R,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-naphthalin-1-sulfonates**

3 g einer äquimolaren Mischung von (6S,αS)- und (6R,αS)-Tetrahydrofolsäure (6.73 mmol) werden in 130 ml Methanol mit 2.33 g Naphthalin-1-sulfonsäurenatriumsalz (10.1 mmol) und 4.7 ml 2 M HCl versetzt und 7 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Man erhält eine Lösung von Tetrahydrofolsäuredimethylester-naphthalin-1-sulfonat mit einem Diastereomerenverhältnis von (6S,αS):(6R,αS) = 1:1.

---

**B Isolierungs- und Anreicherungsverfahren****Beispiel B1****Isolierung und Anreicherung von (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat**

5

a Die gemäss Beispiel A1b erhaltene Lösung von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Diastereomerenanteil des (6S, $\alpha$ S)-Diastereomeren von 74% wird unter Ausschluss von Sauerstoff auf 1/6 des Volumens eingengt. Die so erhaltene Suspension wird unter Stickstoffatmosphäre für 2 Stunden bei 4°C gelagert, das abgeschiedene Produkt wird abgesaugt, mit wenig kaltem Methanol gewaschen und bei 40°C und 20 mbar getrocknet. Man erhält 0.55 g Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat (0.87 mmol, 44% der theoretischen Ausbeute). Das Verhältnis der Diastereomeren des Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonates (6S, $\alpha$ S):(6R, $\alpha$ S) beträgt 99:1.  $[\alpha]_{589} = -69.8^\circ$  (c = 1 in Dimethylsulfoxid).

10

15

Die Substanz zersetzt sich oberhalb von 150°C.

$^1\text{H}$ -NMR in DMSO- $d_6$ : 10.61 (1 H, bs), 8.35 (1H, d), 7.6-7.74 (m), 7.51 (1H, bs), 7.30-7.37 (m), 6.70 (2H, d, 2H, bs), 4.42 (2H, m), 3.63 (3H, s), 3.58 (3H, s), 3.50 (1H, m), 3.38 (1H, m), 3.28 (1H, m), 2.44 (2H, m), 2.01-2.13 (2H, m)

20

**b Isolierung und Anreicherung von (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat aus der Lösung gemäss Beispiel A1c**

25

Die gemäss Beispiel A1c erhaltene Lösung von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Anteil des (6S, $\alpha$ S)-Diastereomeren von 34% wird unter Ausschluss von Sauerstoff unter Stickstoffatmosphäre für 2 Stunden bei 4°C gelagert. Danach wird das abgeschiedene Produkt abgesaugt, mit wenig kaltem Methanol gewaschen und dann bei 40°C und 20 mbar getrocknet. Man erhält 0.2 g Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Anteil des (6S, $\alpha$ S)-Diastereomeren von 96.6%.

30

**c Isolierung und Anreicherung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat aus der Lösung gemäss Beispiel A2**

Die klare Lösung aus Beispiel A2 wird auf Raumtemperatur abgekühlt und über Nacht gerührt. Der abgeschiedene Feststoff wird abgesaugt, mit Methanol und tert.-Butylmethylether gewaschen und bei 30°C und 10 mbar getrocknet. Man erhält 9.62 g farbloses kristallines Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat (15.24 mmol) mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 99.1%. (Aus der Mutterlauge B1c kann das (6R,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat wie unter Beispiel B5 beschrieben hergestellt werden.)

4 g (6.34 mmol) des erhaltenen Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonates mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 99.1% werden in 220 ml siedendem Methanol gelöst. Man lässt auf Raumtemperatur abkühlen, lässt über Nacht stehen und saugt den abgeschiedenen Feststoff ab. Man wäscht mit Methanol und tert.-Butylmethylether und trocknet bei 35°C und 10 mbar. Man erhält 3.08 g (4.88 mmol) farbloses kristallines Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 99.5%.

**d Isolierung und Anreicherung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat aus der Lösung gemäss Beispiel A3**

Man lässt die nach Beispiel A3 erhaltene Lösung auf Raumtemperatur abkühlen und impft die Lösung bei 60°C mit diastereomerenreinem (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat an. Nach Stehen über Nacht saugt man den abgeschiedenen Feststoff ab, wäscht mit Methanol und tert.-Butylmethylether und trocknet bei 35°C und 10 mbar. Man erhält 3.46 g (5.48 mmol) Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Anteil des (6S,αS)-Diastereomeren von 99.9%.

**Beispiel B2**

**Isolierung und Anreicherung von (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-Toluolsulfonat**

Die unter Beispiel A4 erhaltene äquimolare Mischung von Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonat wird auf Raumtemperatur abgekühlt und über Nacht gerührt. Der abgeschiedene Feststoff wird abgesaugt, mit Methanol und tert.-Butylmethylether gewaschen und bei 30°C und 10 mbar getrocknet. Man erhält

5.53 g farblores kristallines Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonat (9.54 mmol) mit einem Anteil des (6S, $\alpha$ S)-Diastereomeren von 99.1%.

5.2 g (8.97 mmol) des so erhaltenen Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonates mit einem Anteil des (6S, $\alpha$ S)-Diastereomeren von 99.1% werden in 182 ml siedendem Methanol gelöst. Man lässt auf Raumtemperatur abkühlen, rührt drei Stunden bei Raumtemperatur und saugt den abgeschiedenen Feststoff ab. Man wäscht mit Methanol und tert.-Butylmethylether und trocknet bei 35°C und 10 mbar. Man erhält 4.43 g (7.64 mmol) farblores kristallines Tetrahydrofolsäuredimethylester-toluolsulfonat mit einem Anteil des (6S, $\alpha$ S)-Diastereomeren von 99.8%.

#### Beispiel B3

##### Isolierung und Anreicherung von (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-naphthalin-1-sulfonat

Die unter Beispiel A5 erhaltene Lösung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und über Nacht gerührt. Der abgeschiedene Feststoff wird abgesaugt und bei 30°C und 10 mbar getrocknet. Man erhält 0.34 g farblores Tetrahydrofolsäuredimethylester-naphthalin-1-sulfonat (0.55 mmol) mit einem Anteil des (6S, $\alpha$ S)-Diastereomeren von 62.7%.

#### Beispiel B4

##### Herstellung von (6S, $\alpha$ S)-Tetrahydrofolsäure-benzolsulfonat durch Hydrolyse von Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat

0.55 g Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat (0.95 mmol) gemäss Beispiel B1a und 0.32 g Natriumcarbonat (3.02 mmol) werden unter Ausschluss von Sauerstoff in 4 ml Wasser gelöst. Man erhitzt auf 85°C und stellt nach 30 Minuten den pH-Wert mit 37%iger Salzsäure auf pH = 7.5 ein. Bei 75°C werden 0.2 g Benzolsulfonsäure in 0.6 ml Wasser zugegeben und anschliessend wird der pH-Wert mit 37%iger Salzsäure auf pH = 0.8 eingestellt. Man lässt die Lösung auf Raumtemperatur abkühlen und rührt noch drei Stunden. Das Produkt wird abgenutscht und im Trockenschrank bei 30°C und 20 mbar 4 Tage lang getrocknet. Man erhält 8.4 g Tetrahydrofolsäure-benzolsulfonat (13.92 mmol, 88% der theoretischen Ausbeute).

Das Diastereomerenverhältnis des Tetrahydrofolsäure-benzolsulfonates (6S,αS):(6R,αS) beträgt 99:1.

Die Eigenschaften des Tetrahydrofolsäure-benzolsulfonates sind mit denen des in EP 0495204 B1 beschriebenen Produktes identisch.

5

#### **Beispiel B5**

##### **Isolierung von angereichertem (6R,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat**

10

Die Mutterlauge aus Beispiel B1c wird auf ein Viertel des Volumens eingeeengt. Man kühlt auf 0°C ab, impft mit diastereomerenreinem (6S,αS)-Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat an und saugt 1.5 g Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem Diastereomerenverhältnis von (6S,αS):(6R,αS)= 97:3 ab. Die Mutterlauge wird bis zur Trockene eingeeengt. Der ölige Rückstand wird mit 200 ml Diethylether versetzt und 2 Stunden bei 0°C gerührt. Der abgeschiedene Feststoff wird abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und bei 30°C und 20 mbar getrocknet. Man erhält 14.8 g Tetrahydrofolsäuredimethylester-benzolsulfonat mit einem (6R,αS)/ (6S,αS)-Diastereomerenverhältnis von 80:20.

15

20

25

30

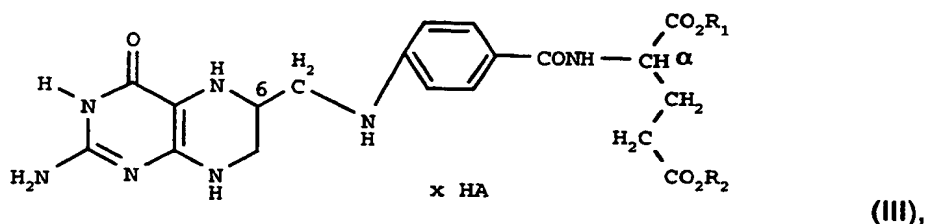
# Pat ntansprüch

1 Verfahren zur Herstellung und Anreicherung von (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäureestersalzen und -Tetrahydrofolsäure, dadurch gekennzeichnet, dass man in organischen Lösungsmitteln äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren herstellt oder löst, anschliessend wenigstens einmal kristallisiert, und dann das Kristallisat gegebenenfalls zu (6S, $\alpha$ S)- oder (6S, $\alpha$ R)-Tetrahydrofolsäure hydrolysiert, diese als freie Säure kristallisiert oder in Form eines Salzes isoliert.

10

2 Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Additionssalze der Tetrahydrofolsäureester der Formel III entsprechen, die die (6S, $\alpha$ S)-, (6S, $\alpha$ R)-, (6R, $\alpha$ S)- und (6R, $\alpha$ R)-Diastereomeren umfasst,

15



20

worin  $R_1$  oder  $R_2$  H sind, und eines von  $R_1$  oder  $R_2$ , oder beide  $R_1$  und  $R_2$  unabhängig voneinander einen monovalenten Kohlenwasserstoffrest oder einen über ein C-Atom gebundenen Heterokohlenwasserstoffrest mit Heteroatomen ausgewählt aus der Gruppe -O-, -S- und -N- darstellen,

HA für eine aromatische Sulfonsäure steht,

25

und x eine ganze Zahl von 1 bis 6 oder eine gebrochene Zahl zwischen 0 bis 6 bedeutet

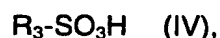
3 Verfahren gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass  $R_1$  und  $R_2$   $C_1$ - $C_4$ -Alkyl bedeutet.

30

4 Verfahren gemäss Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass  $R_1$  und  $R_2$  für Methyl stehen.

5 Verfahren gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass x in Formel III für die Zahlen 1 oder 2, oder eine gebrochene Zahl zwischen 0.5 und 2 steht.

5 6 Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die aromatischen Sulfonsäuren der Formel IV entsprechen,



10 worin  $R_3$  unsubstituiertes oder mit  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl,  $C_1$ - $C_4$ -Halogenalkyl oder  $C_1$ - $C_4$ -Alkoxy substituiertes Phenyl darstellt.

7 Verfahren gemäss Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die aromatische Sulfonsäure Benzol- oder -p-Toluolsulfonsäure ist.

15 8 Verfahren gemäss Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass in den Verbindungen der Formel III  $R_1$  und  $R_2$  je Methyl darstellen, x für 1 oder 2 oder für eine gebrochene Zahl zwischen 0.5 und 2 steht, und HA Phenyl-, Toluy-, Fluor-, Chlor- oder Trifluormethylphenyl-sulfonsäure bedeutet.

20 9 Verfahren gemäss Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass in den Verbindungen der Formel III  $R_1$  und  $R_2$  je Methyl darstellen, x für 1 oder 2 oder für eine gebrochene Zahl zwischen 0.5 und 2 steht, und HA Phenyl- oder p-Toluylsulfonsäure bedeutet.

25 10 Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Mischungen das (6S, $\alpha$ S)- beziehungsweise (6S, $\alpha$ R)-Diastereomere in einem Anteil von wenigstens 5 Gewichtsprozent oder mehr enthalten.

30 11 Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den organischen Lösungsmitteln um polare organische Lösungsmittel handelt, die wenigstens 1 g Additionssalz eines Tetrahydrofolsäureesters pro Liter Lösungsmittel bei Siedetemperatur lösen.

- 12 Verfahren gemäss Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass man Alkohole oder Mischungen aus Alkoholen mit wenigstens einem weiteren Lösungsmittel verwendet.
- 5 13 Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man äquimolare oder angereicherte Mischungen von Diastereomeren von Additionssalzen aus Tetrahydrofolsäureestern mit aromatischen Sulfonsäuren in einem Lösungsmittel mischt und anschliessend das Gemisch zur Lösung der Additionssalze von Tetrahydrofolsäureestern und aromatischen Sulfonsäuren erwärmt, danach die Lösung abkühlt, wobei das (6S,αS)- oder (6S,αR)-Diastereomere auskristallisiert oder beide Diastereomeren auskristallisieren, und diese dann mittels Filtration abtrennt.
- 10 14 Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man Reaktionslösungen aus der Hydrierung von Folsäureestern, oder aus der Hydrierung von Additionssalzen von Folsäureestern und aromatischen Sulfonsäuren, oder aus der Hydrierung von Folsäure in Gegenwart von Sulfonsäuren unter veresternden Bedingungen verwendet.
- 15 15 Verfahren gemäss Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofoläureester-Sulfonate oder deren Gemische zu (6S,αS)- oder (6S,αR)-Tetrahydrofolsäure oder deren Gemische basisch hydrolysiert.
- 20

25

30



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Appl. No.  
PCT/00/06647

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D475/04 //(C07D475/04,239:00,241:00)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 0 495 204 A (EPROVA AG) 22 July 1992 (1992-07-22) cited in the application claims 1-10	1-15
Y	EP 0 537 492 A (EPROVA AG) 21 April 1993 (1993-04-21) claims 1-10	1-15
Y	EP 0 682 026 A (EPROVA AG) 15 November 1995 (1995-11-15) cited in the application claims 1-13	1-15
Y	EP 0 348 641 A (EPROVA AG) 3 January 1990 (1990-01-03) claims 1-12	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 October 2000

Date of mailing of the international search report

23/10/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, T.x. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Herz, C

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

EP 00/06647

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 495204 A	22-07-1992	CH 681303 A	26-02-1993
		AT 123777 T	15-06-1995
		AU 654993 B	01-12-1994
		AU 1025492 A	23-07-1992
		CA 2059103 A,C	17-07-1992
		CN 1063285 A,B	05-08-1992
		DE 59105722 D	20-07-1995
		DK 495204 T	07-08-1995
		ES 2075315 T	01-10-1995
		FI 920180 A	17-07-1992
		HU 60272 A,B	28-08-1992
		IE 72164 B	26-03-1997
		IL 100478 A	12-03-1999
		JP 2010692 C	02-02-1996
		JP 4312586 A	04-11-1992
		JP 7039417 B	01-05-1995
		KR 207133 B	15-07-1999
		LV 10083 A,B	10-05-1994
		MX 9200063 A	01-01-1993
		NO 301422 B	27-10-1997
		NZ 241245 A	25-11-1993
		PT 100014 A,B	31-03-1993
		RU 2099340 C	20-12-1997
		US 5324836 A	28-06-1994
		ZA 9200291 A	30-09-1992
EP 537492 A	21-04-1993	CH 682664 A	29-10-1993
		AT 122675 T	15-06-1995
		CA 2078939 A,C	16-04-1993
		DE 59202227 D	22-06-1995
		DK 537492 T	17-07-1995
		ES 2073222 T	01-08-1995
		JP 2011432 C	02-02-1996
		JP 5294968 A	09-11-1993
		JP 7042288 B	10-05-1995
		US 5300505 A	05-04-1994
EP 682026 A	15-11-1995	CH 686369 A	15-03-1996
		AT 188699 T	15-01-2000
		AU 704363 B	22-04-1999
		AU 1793195 A	16-11-1995
		CA 2148671 A	10-11-1995
		CN 1122337 A	15-05-1996
		DE 59507591 D	17-02-2000
		ES 2144066 T	01-06-2000
		FI 952198 A	10-11-1995
		HU 71612 A	29-01-1996
		JP 8041062 A	13-02-1996
		NO 951796 A	10-11-1995
		PT 682026 T	31-05-2000
		ZA 9503673 A	12-01-1996
EP 348641 A	03-01-1990	DE 3821875 C	15-02-1990
		AT 124042 T	15-07-1995
		AU 624620 B	18-06-1992
		AU 3716189 A	04-01-1990
		CA 1339675 A	17-02-1998
		CN 1038813 A,B	17-01-1990

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Normal patent family members

International Application No

PCT/90/06647

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 348641 A		DD 284018 A	31-10-1990
		DE 58909305 D	27-07-1995
		DK 237789 A	30-12-1989
		ES 2075010 T	01-10-1995
		FI 893158 A,B,	30-12-1989
		HU 50822 A,B	28-03-1990
		IE 68942 B	24-07-1996
		JP 2048577 A	19-02-1990
		JP 2114722 C	06-12-1996
		JP 8026022 B	13-03-1996
		KR 9603613 B	20-03-1996
		NO 892697 A,B,	02-01-1990
		NZ 229254 A	26-10-1990
		PH 27148 A	02-04-1993
		PT 90999 A,B	07-11-1990
		US 5006655 A	09-04-1991
		ZA 8904896 A	28-03-1990

---

**THIS PAGE BLANK** (USPTO)

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern Sales Aktenzeichen

PCT 00/06647

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 C07D475/04 //(C07D475/04, 239:00, 241:00)

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 C07D

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	EP 0 495 204 A (EPROVA AG) 22. Juli 1992 (1992-07-22) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche 1-10	1-15
Y	EP 0 537 492 A (EPROVA AG) 21. April 1993 (1993-04-21) Ansprüche 1-10	1-15
Y	EP 0 682 026 A (EPROVA AG) 15. November 1995 (1995-11-15) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche 1-13	1-15
Y	EP 0 348 641 A (EPROVA AG) 3. Januar 1990 (1990-01-03) Ansprüche 1-12	1-15

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

6. Oktober 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

23/10/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Herz, C

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung und zur selben Patentfamilie gehören

ales Aktenzeichen

EP 00/06647

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 495204	A	22-07-1992	CH 681303 A	26-02-1993
			AT 123777 T	15-06-1995
			AU 654993 B	01-12-1994
			AU 1025492 A	23-07-1992
			CA 2059103 A,C	17-07-1992
			CN 1063285 A,B	05-08-1992
			DE 59105722 D	20-07-1995
			DK 495204 T	07-08-1995
			ES 2075315 T	01-10-1995
			FI 920180 A	17-07-1992
			HU 60272 A,B	28-08-1992
			IE 72164 B	26-03-1997
			IL 100478 A	12-03-1999
			JP 2010692 C	02-02-1996
			JP 4312586 A	04-11-1992
			JP 7039417 B	01-05-1995
			KR 207133 B	15-07-1999
			LV 10083 A,B	10-05-1994
			MX 9200063 A	01-01-1993
			NO 301422 B	27-10-1997
			NZ 241245 A	25-11-1993
			PT 100014 A,B	31-03-1993
			RU 2099340 C	20-12-1997
			US 5324836 A	28-06-1994
			ZA 9200291 A	30-09-1992
EP 537492	A	21-04-1993	CH 682664 A	29-10-1993
			AT 122675 T	15-06-1995
			CA 2078939 A,C	16-04-1993
			DE 59202227 D	22-06-1995
			DK 537492 T	17-07-1995
			ES 2073222 T	01-08-1995
			JP 2011432 C	02-02-1996
			JP 5294968 A	09-11-1993
			JP 7042288 B	10-05-1995
			US 5300505 A	05-04-1994
EP 682026	A	15-11-1995	CH 686369 A	15-03-1996
			AT 188699 T	15-01-2000
			AU 704363 B	22-04-1999
			AU 1793195 A	16-11-1995
			CA 2148671 A	10-11-1995
			CN 1122337 A	15-05-1996
			DE 59507591 D	17-02-2000
			ES 2144066 T	01-06-2000
			FI 952198 A	10-11-1995
			HU 71612 A	29-01-1996
			JP 8041062 A	13-02-1996
			NO 951796 A	10-11-1995
			PT 682026 T	31-05-2000
			ZA 9503673 A	12-01-1996
EP 348641	A	03-01-1990	DE 3821875 C	15-02-1990
			AT 124042 T	15-07-1995
			AU 624620 B	18-06-1992
			AU 3716189 A	04-01-1990
			CA 1339675 A	17-02-1998
			CN 1038813 A,B	17-01-1990

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die die Patentfamilie gehören

Intern: Aktenzeichen

PCT/ 0/06647

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamili	Datum der Veröffentlichung
EP 348641 A		DD 284018 A	31-10-1990
		DE 58909305 D	27-07-1995
		DK 237789 A	30-12-1989
		ES 2075010 T	01-10-1995
		FI 893158 A, B,	30-12-1989
		HU 50822 A, B	28-03-1990
		IE 68942 B	24-07-1996
		JP 2048577 A	19-02-1990
		JP 2114722 C	06-12-1996
		JP 8026022 B	13-03-1996
		KR 9603613 B	20-03-1996
		NO 892697 A, B,	02-01-1990
		NZ 229254 A	26-10-1990
		PH 27148 A	02-04-1993
		PT 90999 A, B	07-11-1990
		US 5006655 A	09-04-1991
		ZA 8904896 A	28-03-1990

---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**